Prof. S. BELFANTI

IL VALORE DEL SIERO NELLA PROFILASSI E CURA DEL COLÈRA

MILANO
SOCIETÀ PER LE ARTI GRAFICHE " LA GUTENBERG ,,
Corso Porta Romana, 113.
1911

IL VALORE DEL SIERO
NELLA PROFILASSI
E CURA DEL COLERA

PROF. S. BELFANTI

IL VALORE DEL SIERO NELLA PROFILASSI E CURA DEL COLÈRA

MILANO
SOCIETÀ PER LE ARTI GRAFICHE " LA GUTENBERG „
Corso Porta Romana, 113.
1911

Ogni malattia contagiosa è sempre una manifestazione più o meno violenta della lotta sostenuta dall'organismo contro i microbi od i suoi veleni. La vittoria dipende dai rispettivi mezzi dei singoli combattenti; l'organismo sopravive o muore secondo che la sua forza di resistenza è superiore od inferiore. a quella del suo avversario.

La patologia sperimentale delle malattie contagiose deve studiare il meccanismo di questa lotta.

La terapia sperimentale si sforza, basandosi sui dati forniti dalla patologia, di assecondare la natura in questo lavoro di difesa.

Ma per assecondare la natura nella sua lotta colle infezioni bisogna evidentemente comprenderne il meccanismo, bisogna conoscere prima di tutto la patogenesi di una data malattia.

La patogenesi del colèra può essere considerata come chiarita nelle sue grandi linee, ma essa ha ancora dei punti essenziali molto scuri.

Noi sappiamo, mercè i mirabili lavori di R. Koch, che il suo agente morboso è il vibrione colerigeno, il quale è capace in certe condizioni ancora mal definite di svilupparsi nell'intestino dell'uomo.

Sappiamo pure che questo vibrione non manifesta alcuna tendenza particolare a penetrare negli altri organi e nel sangue, ma che si moltiplica nell'intestino di dove avvelena l'organismo.

Evidentemente questo non è che uno schema della malattia; tuttavia, per quanto schematici ed insufficienti, questi dati ci insegnano la via da seguire nel trattamento del colèra; che cioè il punto da tenere specialmente in vista è l'intestino, perchè il colèra è precipuamente un processo infettivo dell'epitelio intestinale.

L'importante nella difesa sta nell'assecondare il lavoro dell'organismo, ossia nel concetto immunitario, d'attivare la formazione di un'antitossina o meglio d'introdurvela già bell'e preparata: nel nostro caso speciale lo scopo da raggiungere sta nel rendere l'intestino insensibile al vibrione ed ai suoi veleni.

Ci fu un tempo nel quale si credeva di debellare tutte le malattie infettive colla sieroterapia. L'esempio della sieroterapia difterica pareva potersi applicare a tutti quei morbi dei quali il laboratorio avrebbe potuto trovare e coltivare il bacillo causale. Si credeva che l'iniezione di tale bacillo ad un animale addatto vi avrebbe provocato non solo un'immunità ma un'esuberanza di quei prodotti antitossici che riconosciamo trovarsi nel siero, e che questo a sua volta avrebbe colla sua azione salvato un altro organismo.

Questo concetto semplicista d'una sieroterapia universale verso i microbi patogeni fallì alla prova dei fatti; non perchè esso non fosse fondamentalmente vero, ma perchè il fenomeno è assai più complesso di quanto sul principio della terapia immunitaria si potesse supporre.

Lo studio attento dei fenomeni di immunità dimostrò che questa per costituirsi non segue una via unica ma molteplice a seconda del microorganismo da cui si deve difendere, e che altro è il meccanismo di difesa nella difterite, altro è quello nel colèra; poichè è diverso il meccanismo d'infezione tra queste due malattie.

Il siero quindi che noi ritraggiamo dagli animali immunizzati contro la difterite o contro il colèra ha in realtà un'azione diversa e perciò viene da noi considerato l'uno come antitossico, l'altro come antibatterico.

Una caratteristica importante tra l'uno e l'altro è

quella che essi non seguono le stesse leggi. Il siero antidifterico ad es. segue con molta esattezza la legge che P. Ehrlich chiamò dei multipli, infatti noi con esso possiamo neutralizzare il veleno difterico con dosi di siero in un rapporto costante, per cui se una dose x di veleno viene neutralizzata da una dose x' di siero ne viene che per neutralizzare 2 dosi x di veleno ci vorranno due x' di siero e così di seguito.

Nel siero anticolerico o meglio nei sieri antibatterici questi rapporti non esistono, al più esso basta a neutralizzare pochissime dosi mortali e non oltre; anzi in generale accade un fatto paradossale che dosi alte di siero preservano meno delle piccole.

Noi vedremo innanzi il perchè di questo fatto in apparenza contraddittorio.

La distinzione tra sieri *antitossici* ed *antibatterici* fu causata dal modo stesso con cui agiscono i germi patogeni, dei quali alcuni dànno prodotti velenosi i quali ci servono ad immunizzare senza bisogno del bacillo, altri invece non segregano veleni; in questi veleno e bacillo formano un complesso solo in perfetta dipendenza l'uno dall'altro.

A quale gruppo appartiene il siero anticolerico?

Ho già detto che questo è un siero antibatterico e come tale quindi porta già in sè un vizio d'origine.

L'osservazione clinica aveva dimostrato all'occhio sagace del compianto R. Koch che il colèra doveva essere una malattia d'intossicazione; e tutti ora sappiamo che il v. colerigeno in realtà avvelena ed in alcuni casi anche acutissimamente.

Nelle nostre culture *ordinariamente* noi non troviamo tossine caratteristiche, e per avvelenare noi dobbiamo proprio infettare l'animale col vibrione stesso.

Per la preparazione quindi di un siero anticolerico negli animali noi non ci possiamo servire di tossine, come nella difterite, ma dobbiamo inoculare dosi progressivamente crescenti di vibrioni.

Se nella difterite procedessimo nello stesso modo inoculando cioè i bacilli senza il veleno otterremmo un siero

che a nulla serve; perchè questo, dato anche che avesse un valore sul bacillo, sarebbe incapace di neutralizzare la tossina difterica, vera causa della malattia.

L'iniezione dei vibrioni colerigeni fa sì invece che nel siero si producano sostanze le quali hanno solo un'azione diretta sul vibrione stesso, ossia otteniamo un siero antibatterico.

Vediamo ora in quale modo agisce questo siero contro il b. virgola.

Lo studio di questo meccanismo ha dato origine ad una delle pagine più belle della storia dell'immunità antibatterica, specialmente per opera di Pfeiffer e della sua scuola. Mercè sua e mercè le scoperte di Bordet questo meccanismo è stato sviscerato molto profondamente e così noi possiamo ora conoscere e giudicare del valore di un siero anticolerico.

Quando si inietta un vibrione virulento del colèra nel peritoneo di una cavia questa muore per infezione colerica; se noi però col vibrione iniettiamo una quantità di siero anticolerico, quantità che varia secondo il suo titolo, e che può raggiungere dosi inferiori al milligramma, la morte non avviene, perchè il siero introdotto non solo impedisce l'attechimento, ma distrugge il vibrione stesso per quel fenomeno che dallo scopritore vien appunto chiamato *fenomeno di Pfeiffer*.

Sotto l'azione del siero, mercè due agenti specifici, viene provocata la digestione del microorganismo, digestione che va anche sotto il nome di *batteriolisi* (o soluzione batterica).

L'organismo aiutato dal siero compie quello che già in piccolissima parte può naturalmente compiere verso il vibrione liberandosene con una digestione.

Un siero preparato in questo modo ha quindi per suprema sua funzione quella d'essere *antiinfettivo*.

Il fenomeno della batteriolisi sotto l'azione dei fermenti contenuti nel siero anticolerico e nel corpo dell'animale è certo uno dei trovati più meravigliosi della terapia moderna, terapia che tende realmente ad aumentare, a centuplicare le forze già esistenti nell'organismo.

E naturale che un'organismo preparato coi sieri antiinfettivi potrà difendersi dai vibrioni quando questi tendano a superare le barriere che lo dividono dalle cellule funzionanti; poichè non appena essi si azzardino a oltrepassare questi ostacoli naturali vengono di mano in mano distrutti.

Il valore del siero anticolerico così preparato è quindi indiscutibile. Ma fino a qual limite questo valore può giungere?

Abbiamo già premesso che i sieri antibatterici hanno un limite d'azione ristretto mentre gli antitossici sono sempre in grado di neutralizzare quantità grandissime di tossina.

Infatti se noi iniettiamo alla cavia solo 3-4 volte la dose mortale di bacilli e nello stesso tempo aumentiamo il quantitativo di siero al di là della dose necessaria a ucciderli tutti la cavia muore per infezione.

Noi possiamo convincerci di questo fatto in altro modo e cioè: introduciamo i vibrioni colerigeni, anzichè vivi, uccisi ad una temperatura di 60° C ed incapaci quindi di infettare e noi vedremo l'animale soccombere egualmente non appena vengono iniettate dosi un po' forti di bacilli superiori di 2-3 volte la dose letale.

Ma vi ha di più, noi possiamo rendere sterile il peritoneo col siero e nonostante che tutti i vibrioni siano morti e disciolti l'animale muore egualmente.

Quali elementi nuovi compaiono a rapirci la vittoria quando ci pareva d'esser sicuri di averla raggiunta?

Questi elementi nuovi dipendono dai meccanismi di offesa del vibrione colerigeno. Lo scienziato credeva che debellando il germe annientandolo col siero battericida, la lotta fosse finita; invece il germe distrutto si vendica lasciando dietro sè un veleno che il siero battericida non vale a svelenare perchè esso non è antitossico.

Ecco quindi che nella patogenesi del colèra noi dobbiamo considerare due momenti e due funzioni del vibrione, l'*una infettiva* legata al crescere ed al moltiplicarsi del bacillo, funzione che entro certi limiti può essere impedita dal siero battericida che la tronca, l'*al-*

tra tossica in seguito alla quale e contro la quale non giova il siero antiinfettivo.

Ma qui vien fatto di domandarsi, esiste questa tossina del colèra? e che cosa è? Non si poteva negare ciò che l'esperimento, oltre che la Clinica, insegna, che cioè di colèra si muore per intossicazione; ma donde viene il veleno? È esso una secrezione tossica del vibrione colerigeno come nella difterite, o il veleno compare solo dalla disgregazione batterica?

L'argomento fu oggetto di discussioni vivacissime, tra due campi l'un contro l'altro armati.

Per farla breve dirò soltanto che la scuola dell'Istituto Pasteur e quella di Vienna sostennero essere il veleno un'esotossina come accade nella difterite e ch'esso si puo ottenere mercè opportuni mezzi anche nelle culture; mentre per la scuola di Pfeiffer esso è un endotossina, un veleno cioè non secreto per funzione bacillare ma che si mette in libertà solo per la scomposizione del corpo batterico in causa del siero battericida e dei succhi dell'organismo che agiscono da fermenti. L'endotossina è quindi un veleno secondario, causato dalla digestione batterica.

La dottrina dell'*endotossina* di Pfeiffer tiene ora il campo sulla *esotossina da secrezione*.

Secondo le idee di Pfeiffer la distruzione del vibrione di Koch fa sì che vengano messe in libertà delle sostanze secondarie tra cui dei veleni, alla stessa guisa che la tripsina dalla molecola albuminoide mette in libertà oltrechè delle albumosi anche dei peptoni che sono velenosi.

Per altri studiosi invece il vibrione segregherebbe un vero tossico, producente negli animali un avvelenamento acuto.

La difficoltà di preparare tale tossina sta nel trovare un mezzo nutritizio adatto, perchè il b. virgola trovi come nell'intestino umano gli elementi chimici per tale fabbricazione.

Secondo questi A. A. poi non tutti i ceppi colerigeni sarebbero egualmente adatti alla produzione di tossine pur essendo negli animali molto virulenti.

Ricordo appena a questo proposito le ricerche di Kraus e della sua scuola sul vibrione del colèra scoperto a Nasik nell'India e quello a El Tor in Egitto.

I pareri sulla natura e sul modo d'agire di questa tossina colerica non furono molto concordi. Emmerich credette perfino che l'intossicazione acutissima di questa malattia dipendesse dall'emissione nell'intestino per mezzo del vibrione di acido nitroso libero. Quest'acido nitroso a contatto colla mucosa intestinale vi provocherebbe la necrosi, la desquammazione degli epiteli, la diarrea, l'algidità, etc., insomma tutta la sintomatologia colerica.

Dalle culture e fors'anco dall'intestino si possono estrarre come si sono estratti parecchi veleni, e ciò è naturale, tanto più quando si pensi che il vibrione colerigeno intacca fortemente la molecola albuminoide e perfino i peptoni. Ma questi potranno esser veleni secondarii.

Ciò che è indiscutibilmente vero è che la dissoluzione del vibrione batterico porta un'intossicazione acuta per endotossina indipendentemente da possibili veleni secondari.

Quando poi si pensi che il vibrione colerigeno per un nonnulla passa in dissoluzione tanto più se in un mezzo leggermente alcalino, come possono essere i succhi dell'intestino, è facile capire come in questo possa esservi in alcuni casi abbondantissima l'endotossina.

Di ciò consegue che un siero batteriolitico non ha azione contro questi veleni, che anzi più esso ha azione dissolvente sui vibrioni è più metterà in libertà maggior quantità di veleni endogeni, e quindi teoricamente esporrà a maggior pericolo l'organismo che lo riceve; fortunatamente ciò non accade in realtà; poichè il siero non viene introdotto nel focolaio di produzione batterica e la distruzione avviene grado grado.

Queste cognizioni approfondite del meccanismo d'azione dei sieri batteriolitici e della conseguente rivelazione dei veleni endotossici del colèra mise gli studiosi di sieroterapia alla ricerca di quei sieri che potessero

contrapporsi anche all'intossicazione colerica così considerata.

Per un certo periodo di tempo queste ricerche andarono un poco a tastoni per le poche cognizioni che si avevano sulla natura del veleno; poichè dei molti preconizzati come tali non erano forse se non prodotti di manipolazione; ora invece mercè tecniche più appropriate si riesce ad estrarre dai vibrioni la endotossina.

I caratteri di questo veleno sono abbastanza peculiari; e infatti iniettato nel peritoneo delle cavie provoca come sintomo fondamentale l'abbassamento della temperatura (ipotermia notevolissima). Questa ipotermia secondo Hankow, che estrasse dal vibrione colerigeno un nucleoproteide come già prima di lui il Lustig e Galeotti, è dovuta al fatto ch'esso agisce diminuendo le ossidazioni del protoplasma donde un'asfissia generale con cianosi, crampi, etc.

La tecnica della preparazione di questi sieri è quindi diversa nei varii Istituti, ciò che indica che vi sono ancora divergenze nel considerare il veleno colerico.

I sieri anticolerici antitossici, ora ammessi alla prova clinica, sono: quello dell'Istituto Pasteur o di Salimbeni preparato con metodi speciali di cultura nei quali secondo l'A. il vibrione secerne i suoi prodotti velenosi;

quello del Kraus di Vienna;

quello di Mac Fadyean di Londra;

quello di Chouroupoff di Pietroburgo.

Queste preparazioni sono fatte trattando il vibrione colerigeno con manipolazioni diverse chimiche e fisiche.

Colle endotossine o tossine così ottenute si preparano gli animali fornitori del siero coi soliti mezzi delle iniezioni a dosi crescenti.

Tutti questi sieri avrebbero, secondo i varî preparatori la proprietà di neutralizzare le endotossine in una certa misura specialmente se il siero viene mescolato con queste prima di iniettarlo, il loro potere battericida e batteriolotico è scarso sebbene possiedano ambe queste proprietà.

Il siero di Berna (Kolle) è invece un miscuglio di sierî

batteriolitici e di sieri ottenuti per mezzo di estratti, e stanno tra loro in una proporzione come di 1 a 2.

Secondo Kolle i sieri scarsamente batteriolitici e fortemente antitossici come quello di Salimbeni e quello di Kraus avrebbero dato nelle epidemie di Russia, nelle epidemie delle Filippine meno buoni risultati del suo costituito dalle due specie di sieri. Egli anzi insiste su questo suo metodo ritenendolo superiore agli altri.

Manca però ancora un confronto metodico tra questi diversi sieri così diversamente preparati, perchè solo da tale confronto risulterebbe l'identità o no della endotossina usata.

I sieri batteriolitici sono sempre confrontabili tra di loro, e se diversificano ciò è soltanto per quantità non per qualità; sarà lo stesso di quelli antitossici? Ciò finora noi non possiamo dire.

Non avendo per il momento questi dati di confronto vediamoli all'atto pratico, cioè alla prova fattane, specialmente nelle recenti epidemie della Russia.

Qui furono largamente usati il siero Salimbeni — il siero di Kraus — il siero di Kolle — il siero di Chouroupoff.

Il siero di Kraus, uno dei più strettamente antitossici non ha corrisposto all'aspettativa. L'Hundögger dell'Ospedale Maddalena di Pietroburgo così conclude in proposito:

1° Il trattamento col siero di Kraus non è dannoso;

2° Il siero non ha alcun influsso sull'andamento del processo.

Il siero di Kolle (Berna) fu provato nell' Ospedale Obuchow su un certo numero di casi con un discreto risultato. Ma la conclusione cui arriva Kolle stesso è questa: Non vi è da parlare d'un sicuro effetto colla sieroterapia nello stadio algido del colèra.

Il siero di Chouroupoff preparato nell'Ist. di Medicina Sperimentale di Pietroburgo e che è pure antiendotossico e su cui si fondavano grandissime speranze, per ora non si è comportato diversamente dagli altri; osserviamo ciò che di esso dice Berdnikoff dell'Ist. Imper.

di Medicina Sperimentale a Pietroburgo che trae questa conclusione:

La prova d'un trattamento per il siero antiendotossico lascia intravedere la possibilità in un avvenire vicinissimo di un notevole progresso nel trattamento del colèra.

Ma oltre questa conclusione poco confortevole al presente per l'uso di questo siero mi piace ricordarne altre che si possono forse applicare anche al valore degli altri sieri e cioè:

— La maggior parte delle statistiche della mortalità di colèra (statistiche su cui si basano le percentuali anche dei sieri) non merita alcuna credenza, perchè la diagnosi della malattia non corrisponde alle esigenze della scienza moderna.

Salimbeni con una statistica di 42 casi conclude il suo rapporto sull'efficacia del suo siero dicendo: che il *siero anticolerico può già essere considerato come un ausiliare prezioso nel trattamento del colèra umano.*

Purtroppo la statistica sulla quale egli si basa è troppo scarsa per trarne utili conclusioni; la relazione ufficiale russa di Bertenson comparsa dopo il suo lavoro parla di risultati più che mediocri ottenuti col siero Salimbeni.

Se da tutto quanto abbiamo detto dobbiamo trarre qualche conclusione pratica, questa ci può esser suggerita dalla patogenesi del colèra, che siamo andati svolgendo.

Noi abbiamo affermato che esso è un'infezione dell'intestino e più specialmente dell'epitelio intestinale, per parte di un vibrione che si moltiplica in esso, e che facilmente si può disciogliere dando endotossine.

L'adagio del *principiis obsta* dev'esser nel colèra preso a bandiera più che in nessun'altra malattia, poichè il decorso di questo diviene burrascoso già dopo poche ore dall'inizio. Il primo scopo da raggiungere è d'impedire che il vibrione cresciuto già nell'intestino arrivi ad intaccare la mucosa, poichè come dicemmo il co-

lèra si esplica allorchè il b. virgola penetra dal contenuto intestinale nell'epitelio.

Questa prima resistenza dell'epitelio che può già essere originariamente debole o che viene indebolita da errori dietetici può esser rafforzata dalla terapia immunitaria.

La vaccinazione preventiva conduce attivamente a questo aumento di difesa ed in Russia furono fatti esperimenti importantissimi al riguardo.

La sieroterapia preventiva coi sieri antibatterici può condurre agli stessi risultati, nulla vi è di controindicato a questa pratica in caso di epidemie gravi. Con essa è possibile in poche ore aumentare il contenuto batteriolitico del nostro siero accrescendo così i mezzi di difesa delle cellule poche ore dall'inizio.

La *batteriolisi in situ* coi sieri antibatterici non è stata mai provata e certo varrebbe la pena di studiare il comportamente dei sieri nell'intestino ove si trovasse modo di portarli colà inalterati.

Quando il vibrione ha vinto le barriere epiteliali, quando queste sono invase e diventate necrotiche, quando il bacillo virgola si è approfondito fino alla membrana basale, ed i prodotti della dissoluzione batterica accompagnati dagli altri prodotti intestinali sono entrati in circolo, allora è ben difficile una sieroterapia anche coi sieri antiendotossici.

Si aggiunga la difficoltà d' applicazione di tali sieri per iniezione endovenosa, la grande quantità da usarne per averne un sollievo, il prezzo alto che la medicina viene ad avere in tale quantità, tutto ciò rende difficile che la sieroterapia entri nell'uso generale a scopo curativo pel colèra.

Quest'esposizione sul valore dei sieri contro il colèra che io ho voluto rendere semplice ed oggettiva il più possibile, sebbene sia venuta a dimostrare la loro presente insufficienza avrà però d'altra parte convinto dell'alto interesse scientifico che hanno avuto ed hanno questi studii; perchè ci mettono addentro alle varie fasi della lotta tra vibrione ed organismo.

La partita non è perduta per la Scienza, essa è rimandata finchè siensi riconosciuti i momenti che intercedono tra batteriolisi e consecutivo avvelenamento.

Già ora si sa mercè i continui studii di Pfeiffer sul tifo come ben poca, anzi nessuna differenza qualitativa passi tra un siero battericida ed uno antiendotossico, la differenza sta solo nella quantità, per cui questo riesce più rapidamente svelenante dell'altro.

Siccome, sempre secondo Pfeiffer, l'azione antivelenosa è come la batteriolitica essenzialmente dovuta ad una scissione fermentativa della molecola tossica, così non è impossibile che si arrivi alla preparazione di un buon siero svelenante anche per il colèra — ciò che è da augurarsi.